

## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		肥満・糖尿病標的としての新規代謝関連分子 KRAP の分子機能解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Molecular elucidation of KRAP as a target for obesity and diabetes			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) フジモト	名) タカヒロ	研究期間 B	2010年 ~ 2011年
	漢字 CB	藤本	崇宏	報告年度 YR	2012 年
	ローマ字 CZ	FUJIMOTO	TAKAHIRO	研究機関名	福岡大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		福岡大学医学部細胞生物学・講師			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>KRAP (KRAS-induced actin-interacting protein) は、癌において高発現する遺伝子として我々が同定した分子である。また、KRAP 欠損マウスを用いたこれまでの解析により、KRAP が生理的な全身性のエネルギー恒常性制御において重要な役割を果たすことを明らかにし、肥満・糖尿病標的分子としての可能性も示唆してきた。しかし、KRAP 蛋白機能に関する知見は皆無であった。この度、我々は KRAP 結合蛋白として小胞体膜貫通型カルシウムイオンチャネルであるイノシトール 3 リン酸 (IP3) 受容体 (IP3R) を同定した。IP3R は 3 種のサブタイプからなるファミリーを形成し、サブタイプにより発現細胞・細胞内分布が異なることが知られている。興味深いことに、KRAP と優位に相互作用する IP3R サブタイプは、組織の種類によって異なり、肝臓ではサブタイプ 1, 2 と、膵臓ではサブタイプ 2, 3 と優位に相互作用していることが明らかになった。また、これらの相互作用は極性を持った上皮組織では、細胞内のなかでも頂上面近傍に局限していた。欠損変異体を用いた解析により、KRAP 蛋白と IP3R 蛋白の両者の相互作用に必要なドメインが同定され、さらに培養細胞での KRAP 発現抑制は IP3R からのカルシウムイオン放出を減弱させたことから、KRAP-IP3R 間の相互作用は物理的・機能的な会合であることが証明された。また、KRAP 欠損マウス組織での恒常的な KRAP 欠損および培養細胞での一過性の KRAP 発現抑制が、それぞれ IP3R の局在異常を引き起こしたことから、KRAP は IP3R の正常な細胞内局在化を制御することで、生理的な IP3 仲介性のカルシウムイオン放出を惹起するシグナル伝達に寄与するものと考えられる。今回の KRAP 蛋白機能に関する知見は、細胞内カルシウムイオン制御と代謝疾患あるいは癌との間に密接な関係が存在することを示唆するものである。</p>					
キーワード FA	KRAP	IP3 受容体	カルシウムシグナリング	分子間相互作用	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Determination of the critical region of KRAS-induced actin-interacting protein for the interaction with inositol 1,4,5-trisphosphate receptor.							
	著者名 <sup>GA</sup>	Fujimoto T. et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	Biochem Biophys Res Commun.					
	ページ <sup>GF</sup>	282~286	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	1	巻号 <sup>GD</sup>	408
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	KRAS-induced actin-interacting protein regulates inositol 1,4,5-trisphosphate-receptor-mediated calcium release.							
	著者名 <sup>GA</sup>	Fujimoto T. et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	Biochem Biophys Res Commun.					
	ページ <sup>GF</sup>	214~217	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	1	巻号 <sup>GD</sup>	408
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	KRAS-induced actin-interacting protein is required for the proper localization of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in the epithelial cells.							
	著者名 <sup>GA</sup>	Fujimoto T. et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	Biochem Biophys Res Commun.					
	ページ <sup>GF</sup>	438~443	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	1	巻号 <sup>GD</sup>	407
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要 EZ

KRAS-induced actin-interacting protein (KRAP) was originally identified as a cancer-related molecule, and is involved in the regulation of whole-body energy homeostasis and pancreatic exocrine system. However, the molecular functions of KRAP remain elusive. We herein identified IP<sub>3</sub>R as an associated molecule with KRAP, and the association was validated by the co-immunoprecipitation and confocal immunostaining studies both in the mouse tissues and in the cultured cells. It is of note that KRAP-IP<sub>3</sub>R complex resides in a specialized endoplasmic reticulum (ER) but not a typical reticular ER. The NH<sub>2</sub>-terminal amino acid residues 1-610 of IP<sub>3</sub>R and two consecutive phenylalanine residues (Phe202/Phe203) in mouse KRAP are indispensable for the association. Intriguingly, the KRAP-knockdown in HeLa cells or the KRAP-knockout in the mouse tissues, liver, and pancreas, impair the subcellular localization of IP<sub>3</sub>R, suggesting that KRAP regulates the proper subcellular localization of IP<sub>3</sub>R in the epithelial cells *in vivo* and cultured cells. Moreover, KRAP-knockdown diminishes ATP-induced Ca<sup>2+</sup> release in the cultured cells and the ATP-induced Ca<sup>2+</sup> release is completely quenched by the pretreatment with the IP<sub>3</sub>R inhibitor but not with the ryanodine receptor inhibitor, indicating that KRAP regulates IP<sub>3</sub>R-mediated Ca<sup>2+</sup> release. Thus, KRAP physically associates with IP<sub>3</sub>R to regulate the proper subcellular localization and the IP<sub>3</sub>R-mediated Ca<sup>2+</sup> signaling.